

**PERBANDINGAN PERFORMA PRODUKSI EMBRIO SAPI
PERANAKAN ONGOLE MENGGUNAKAN DONOR YANG
SAMA PADA UMUR BERBEDA**

SKRIPSI

Oleh

ALYA KARUNIA PUTRI



**PROGRAM STUDI S-1 PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2026**

PERBANDINGAN PERFORMA PRODUKSI EMBRIO SAPI
PERANAKAN ONGOLE MENGGUNAKAN DONOR YANG
SAMA PADA UMUR BERBEDA

Oleh

ALYA KARUNIA PUTRI
NIM : 23010122140259

Salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Peternakan pada Program Studi S-1 Peternakan
Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro

PROGRAM STUDI S-1 PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2026

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Alya Karunia Putri
N I M : 23010122140259
Program Studi : S-1 Peternakan

dengan ini menyatakan sebagai berikut :

1. Skripsi yang berjudul: **Perbandingan Performa Produksi Embrio Sapi Peranakan Ongole Menggunakan Donor yang Sama pada Umur Berbeda** dan penelitian yang terkait dengan skripsi ini merupakan karya penulis sendiri.
2. Setiap ide atau kutipan dari karya orang lain berupa publikasi atau bentuk lainnya dalam skripsi ini, telah diakui sesuai dengan standar prosedur disiplin ilmu.
3. Penulis juga mengakui bahwa skripsi ini dapat dihasilkan berkat bimbingan dan dukungan penuh dari Pembimbing yaitu : **Ir. Daud Samsudewa, S.Pt., M.Si., Ph.D., IPM.** dan **Dr. drh. Enny Tantini Setiatin, M.Sc.**

Apabila di kemudian hari dalam skripsi ini ditemukan hal-hal yang menunjukkan telah dilakukannya kecurangan akademik maka penulis bersedia gelar sarjana yang telah penulis dapatkan ditarik sesuai dengan ketentuan dari Program Studi S-1 Peternakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro.

Semarang, Juni 2026

Penulis,



Alya Karunia Putri

Mengetahui :

Pembimbing Utama

Ir. Daud Samsudewa, S.Pt., M.Si., Ph.D., IPM.

Pembimbing Anggota

Dr. drh. Enny Tantini Setiatin, M.Sc.

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : PERBANDINGAN PERFORMA PRODUKSI
EMBRIO SAPI PERANAKAN ONGOLE
MENGUNAKAN DONOR YANG SAMA
PADA UMUR BERBEDA

Nama Mahasiswa : ALYA KARUNIA PUTRI

Nomor Induk Mahasiswa : 23010122140259

Program Studi/Departemen : S-1 Peternakan / Peternakan

Fakultas : PETERNAKAN DAN PERTANIAN

Telah disidangkan di hadapan Tim Penguji
dan dinyatakan lulus pada tanggal

Dosen Pembimbing Utama

Ir. Daud Samudewa, S.Pt., M.Si., Ph.D., IPM.

Dosen Pembimbing Anggota

Dr. drh. Enny Tantini Setiatin, M.Sc.

Ketua Program Studi

Ir. Rudy Hartanto, S.Pt., M.P., Ph.D., IPM.

Ketua Panitia Ujian Akhir Program

Prof. Ir. Vitus Dwi Y. B. I. M.Sc., M.S., Ph.D., IPU.

Dekan

Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D.

Ketua Departemen

Dr. Ir. Sri Sumarsih, S.Pt., M.P., IPM.

RINGKASAN

ALYA KARUNIA PUTRI. 23010122140259. 2026. Perbandingan Performa Produksi Embrio Sapi Peranakan Ongole Menggunakan Donor yang Sama pada Umur Berbeda. (Pembimbing: **DAUD SAMSUDEWA** dan **ENNY TANTINI SETIATIN**).

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis perbedaan performa produksi embrio transfer sapi donor PO umur 6 tahun dengan umur 7 tahun. Proses observasi dan perolehan data dilaksanakan pada bulan November 2025 – Januari 2025 di Balai Embrio Ternak (BET), Cipelang, Kecamatan Cijeruk, Kabupaten Bogor, Jawa Barat.

Materi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 10 data sekunder produksi embrio dari 5 ekor sapi donor PO dianalisis secara berpasangan pada umur 6 tahun dan umur 7 tahun dengan perlakuan hormonal dan manajemen produksi yang sama. Parameter yang diamati meliputi jumlah *corpus luteum* (CL), total embrio koleksi, jumlah kualitas embrio layak transfer dan tidak layak transfer, perhitungan *response rate* dan *recovery rate*. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan pendekatan deskriptif komparatif, diagram fluktuasi, dan analisis statistik non parametrik *Wilcoxon Signed-Rank Test*.

Hasil analisis deskriptif dan diagram fluktuasi produksi embrio individu sapi donor PO umur 6 tahun vs umur 7 tahun menunjukkan adanya variasi respon antar individu donor pada seluruh parameter yang diamati. Produksi pada umur 6 tahun cenderung menghasilkan jumlah CL, *response rate*, dan kualitas embrio layak transfer yang lebih baik. Sedangkan produksi umur 7 tahun menunjukkan nilai *recovery rate* dan kualitas embrio tidak layak transfer lebih tinggi. Hasil analisis Wilcoxon pada sapi donor PO umur 6 dan umur 7 tahun menunjukkan nilai p-value jumlah CL (0,465), total koleksi embrio (0,893), kualitas embrio layak transfer (0,715), degeneratif (0,715), unfertilized (0,593), dan *recovery rate* (0,157) tidak ada perbedaan nyata ($P > 0,05$) yang menunjukkan bahwa pertambahan umur 6 menjadi umur 7 tahun tidak selalu berdampak terhadap penurunan produksi melainkan dipengaruhi oleh kondisi individual sapi donor.

Kesimpulan penelitian ini yaitu produksi embrio sapi donor PO umur 6 tahun dan umur 7 tahun masih optimal dalam menghasilkan embrio baik dari segi kualitas maupun kuantitasnya. Namun berdasarkan analisis deskriptif, sapi PO donor umur 6 tahun lebih disarankan untuk dijadikan prioritas produksi embrio karena memiliki kualitas embrio layak transfer lebih baik.

KATA PENGANTAR

Sapi Peranakan Ongole (PO) merupakan sapi tipe potong hasil persilangan sistem *grading up* antara sapi Jawa dengan sapi Sumba Ongole (SO) yang memiliki potensi untuk dikembangkan dan dilakukan peningkatan mutu genetik. Pemeliharaan dan peningkatan kualitas genetik sapi Peranakan Ongole (PO) melalui teknologi transfer embrio merupakan strategi penting untuk mempertahankan genetik unggul dan mempercepat penyebaran genetik dari induk donor berpotensi tinggi. Namun, keberhasilannya sangat bergantung pada evaluasi menyeluruh dalam produksi embrio transfer terhadap faktor yang mempengaruhinya seperti umur pada induk donor.

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Swt. yang telah melimpahkan segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan Skripsi dengan judul "Perbandingan Performa Produksi Embrio Sapi Peranakan Ongole Menggunakan Donor yang Sama pada Umur Berbeda tepat pada waktunya.

Penulis menyadari bahwa penyusunan tugas akhir ini tidak lepas dari bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Ir. Daud Samsudewa, S.Pt., M.Si., Ph.D., IPM. selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan dan masukan untuk penyusunan skripsi kepada penulis;
2. Dr. drh. Enny Tantini Setiatin, M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan bimbingan kepada penulis;

3. Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D selaku Dekan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro;
4. Dr. Ir. Sri Sumarsih, S.Pt., M.P., IPM. selaku Ketua Departemen Peternakan Fakultas Peternakan dan Pertanian;
5. Ir. Rudy Hartanto, S.Pt., M.P., Ph.D., IPM. selaku Ketua Program Studi S-1 Peternakan;
6. Asep Setiaji, S.Pt., M.P. Ph.D. selaku Koordinator Laboratorium Genetika, Pemuliaan dan Reproduksi;
7. Ir. Daud Samsudewa, S.Pt., M.Si., Ph.D., IPM. selaku Dosen Wali yang telah banyak memberikan saran kepada penulis;
8. Seluruh Dosen dan Staff Administrasi Program Studi Peternakan dan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro yang telah membantu penulis dalam proses belajar maupun pengurusan administrasi;
9. Deasy Zamanti, S.Pt, M.Si. selaku ketua Balai Embrio Ternak (BET) Jawa Barat yang telah memberikan izin dan kesempatan bagi penulis untuk melakukan penelitian serta menyediakan fasilitas yang mendukung selama kegiatan penelitian;
10. Fahrudin Darlian, S.Pt., M.Pt. selaku penanggung jawab mahasiswa yang telah memberikan bimbingan dan arahan selama kegiatan di BET berlangsung;
11. Seluruh staf dan teknisi di BET, yang telah banyak membantu, berbagi ilmu, dan memberikan pengalaman kerja yang sangat berharga bagi penulis;
12. (Alm) Bapak Fatwa Nasrun dan Ibu Budiyati selaku orang tua penulis yang selalu memberikan doa dan dukungan kepada penulis;

13. Rekan-rekan mahasiswa Program Studi Peternakan Universitas Diponegoro yang turut membantu penulis;
14. Band Xdinary Heroes, Day6, dan The Rose untuk lagu-lagunya terutama lagu yang berjudul “Dreaming girl”, “Wish”, dan “Childhood” yang telah mewakili perasaan dan memberikan motivasi kepada penulis dalam menyelesaikan tugas akhir;
15. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah membantu dalam pengambilan data.

Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak baik bagi penulis, bagi perusahaan ataupun bagi para pembaca umumnya.

Semarang, Juni 2026

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR ILUSTRASI.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. Sapi Potong.....	4
2.2. <i>Bos indicus</i>	5
2.3. Sapi Peranakan Ongole.....	6
2.4. Sapi Betina.....	6
2.5. Teknologi Transfer Embrio.....	7
2.6. Donor dan Resipien.....	8
2.7. Folikulogenesis.....	10
2.8. Fertilisasi.....	11
2.9. Produksi Embrio <i>in vivo</i>	12
2.10. Faktor Pertambahan Umur.....	15
2.11. Indikator Keberhasilan Embrio.....	19
BAB III MATERI DAN METODE.....	26
3.1. Materi.....	26
3.2. Metode.....	27
3.3. Hipotesis Statistik.....	38
3.4. Kriteria Pengambilan Keputusan.....	38
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	39
4.1. Jumlah <i>corpus luteum</i>	39

4.2.	<i>Response rate</i>	43
4.3.	Total Koleksi Embrio.....	46
4.4.	<i>Recovery rate</i>	50
4.5.	Embrio Layak Transfer.....	53
4.6.	Embrio <i>Degenerative</i>	57
4.7.	Ovum <i>Unfertilized</i>	62
BAB V SIMPULAN DAN SARAN.....		66
5.1.	Simpulan.....	66
5.2.	Saran.....	66
DAFTAR PUSTAKA.....		67
LAMPIRAN.....		78
RIWAYAT HIDUP.....		90

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Fase Perkembangan Embrio.....	22
2. Grading Embrio.....	24
3. Perbandingan Data Perolehan Jumlah <i>corpus luteum</i>	39
4. Hasil Analisis <i>Wilcoxon Signed Ranks</i> Jumlah <i>corpus luteum</i>	40
5. Perbandingan Hasil Perhitungan <i>Response Rate</i>	43
6. Perbandingan Data Perolehan Total Koleksi Embrio.....	46
7. Hasil Analisis <i>Wilcoxon Signed Ranks</i> Total Koleksi Embrio.....	48
8. Perbandingan Hasil Perhitungan <i>Recovery Rate</i>	50
9. Hasil Analisis <i>Wilcoxon Signed Ranks Recovery Rate</i>	51
10. Perbandingan Hasil Perolehan Kualitas Embrio Layak Transfer....	53
11. Hasil Analisis <i>Wilcoxon Signed Ranks</i> Kualitas Layak Transfer....	55
12. Perbandingan Hasil Perolehan Kualitas Embrio <i>Degenerative</i>	57
13. Hasil Analisis <i>Wilcoxon Signed Ranks</i> Kualitas <i>Degenative</i>	60
14. Perbandingan Hasil Perolehan Kualitas Ovum <i>Unfertilized</i>	62
15. Hasil Analisis <i>Wilcoxon Signed Ranks</i> Kualitas <i>Unfertilized</i>	64

DAFTAR ILUSTRASI

Nomor	Halaman
1. Bagan Protokol Produksi Embrio Penyuntikan FSH 3 Hari.....	28
2. Diagram Fluktasi Jumlah <i>corpus luteum</i> Umur 6 Tahun dan Umur 7 Tahun.....	40
3. Diagram Fluktasi Total Koleksi Embrio Umur 6 Tahun dan Umur 7 Tahun.....	47
4. Diagram Fluktasi Kualitas Embrio Layak Transfer Umur 6 Tahun dan Umur 7 Tahun.....	55
5. Diagram Fluktasi Kualitas Embrio <i>Degenerative</i> Umur 6 Tahun dan Umur 7 Tahun.....	59
6. Diagram Fluktasi Kualitas Embrio <i>Unfertilized</i> Umur 6 Tahun dan Umur 7 Tahun.....	63

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Data Produksi Embrio Sapi Donor PO Umur 6 Tahun (Jumlah <i>Corpus Luteum</i> , Kualitas Embrio, Total Koleksi Embrio).....	79
2. Perhitungan <i>Response Rate</i> Sapi Donor PO Umur 6 Tahun dan Umur 7 Tahun	80
3. Perhitungan <i>Recovery Rate</i> Sapi Donor PO Umur 6 Tahun dan Umur 7 Tahun.....	81
4. Perhitungan Persentase Rata-Rata Distribusi Kualitas Embrio Layak Transfer (LT) Sapi Donor PO Umur 6 Tahun dan Umur 7 Tahun	82
5. Perhitungan Persentase Rata-Rata Distribusi Kualitas Embrio <i>Degenerative</i> (DG) Sapi Donor PO Umur 6 Tahun dan Umur 7 Tahun	83
6. Perhitungan Persentase Rata-Rata Distribusi Kualitas Embrio <i>Unfertilized</i> (UF) Sapi Donor PO Umur 6 Tahun dan Umur 7 Tahun.....	84
7. Hasil Analisis Deskriptif dan Analisis <i>Wilcoxon</i> Jumlah <i>Corpus Luteum</i> (CL) Sapi Donor PO Umur 6 Tahun dan Umur 7 Tahun....	85
8. Hasil Analisis Deskriptif dan Analisis <i>Wilcoxon</i> Total Koleksi Embrio Sapi Donor PO Umur 6 Tahun dan Umur 7 Tahun.....	86
9. Hasil Analisis Deskriptif dan Analisis <i>Wilcoxon</i> Kualitas Embrio Layak Transfer (LT) Sapi Donor PO Umur 6 Tahun dan Umur 7 Tahun.....	87
10. Hasil Analisis Deskriptif dan Analisis <i>Wilcoxon</i> Kualitas Embrio <i>Unfertilized</i> (UF) Sapi Donor PO Umur 6 Tahun dan Umur 7 Tahun.....	88
11. Hasil Analisis Deskriptif dan Analisis <i>Wilcoxon</i> Kualitas Embrio <i>Unfertilized</i> (UF) Sapi Donor PO Umur 6 Tahun dan Umur 7 Tahun.....	89
12. Hasil Analisis Deskriptif dan Analisis <i>Wilcoxon Recovery Rate</i> Sapi Donor PO Umur 6 Tahun dan Umur 7 Tahun.....	90

BAB I

PENDAHULUAN

Sapi Peranakan Ongole (PO) merupakan salah satu plasma nutfah tipe sapi potong lokal yang memiliki peran penting dalam industri peternakan di Indonesia. Sapi PO merupakan hasil persilangan (*crossbreeding*) antara sapi Jawa dengan sapi Ongole India yang dikembangkan di Pulau Sumba sekitar tahun 1930 (Irianto *et al.*, 2021). Sapi PO memiliki daya tahan panas dan tahan dengan baik terhadap kondisi iklim tropis, kualitas pakan fluktuatif dan berbagai penyakit endemik di Indonesia (Adhitia *et al.*, 2022). Program IB sapi PO di Indonesia selama beberapa dekade difokuskan pada persilangan (*crossbreeding*) dengan sapi eksotis Eropa seperti *Simmental* dan *Limousin* menghasilkan sapi SimPO dan LimPO dimana hal ini mengancam kemurnian sapi PO murni. Sapi persilangan seperti SimPO dan LimPO cenderung mengalami penurunan kemampuan adaptasi terhadap iklim tropis, pakan lokal, dan penyakit dari generasi ke generasi (Sutarno dan Setyawan, 2015). Populasi sapi PO murni perlu dipertahankan dan ditingkatkan kembali, salah satunya menggunakan teknologi Transfer Embrio (TE).

Transfer Embrio (TE) merupakan teknologi untuk memperbaiki mutu genetik dari jalur kedua induk unggul, baik pejantan maupun betina. Bibit murni hasil TE dapat diperoleh dalam satu generasi dibandingkan IB yang memerlukan lima generasi, karena embrio yang ditransfer memiliki genetik murni dari kedua induk unggul. Melalui teknologi TE yang digabungkan dengan superovulasi atau *Multiple Ovulation and Embryo Transfer* (MOET), satu ekor betina unggul dapat menghasilkan banyak

embrio layak transfer sekaligus dalam satu program (Lubis *et al.*, 2021). Performa ekonomi dan kualitas daging menunjukkan bahwa sapi hasil TE memiliki bobot potong jauh lebih berat, kualitas karkas lebih tinggi, serta nilai jual ekonomi lebih baik dibandingkan sapi yang hanya diproduksi melalui IB (Lee *et al.*, 2023). Namun, jumlah embrio dihasilkan setiap individu ternak setelah perlakuan superovulasi sangat bervariasi (Ningtias *et al.*, 2022). Salah satu penyebab kualitas embrio rendah yaitu populasi folikel primordial ovarium yang rendah dan tingkat atresia folikel yang tinggi (Ireland *et al.*, 2007). Cadangan folikel ovarium tersebut berkorelasi secara negatif dengan bertambahnya umur (Bhardwaj, 2021).

Ternak sapi donor yang telah memasuki fase dewasa mulai umur 2 sampai sekitar 7 tahun memiliki kinerja produksi embrio yang optimal. Sapi kategori ini mampu memproduksi kualitas dan kuantitas embrio jauh lebih baik dibandingkan dengan sapi umur dibawah maupun diatasnya (Silva *et al.*, 2022). Umur induk sapi yang bertambah tua akan terjadi penurunan fungsi dan organ-organ reproduksi dalam memproduksi hormon (Rusadi dan Hartono, 2015). Jumlah folikel akan menurun setelah melewati umur 5 tahun yang mengidentifikasi penurunan keseluruhan cadangan folikel ovarium seiring bertambahnya umur pada sapi potong *crossbreed* (Cushman, 2009). Walaupun umur 6 dan 7 tahun masih termasuk dalam fase dewasa produktif optimal, namun fase ini menjadi sangat krusial karena menentukan kecenderungan penurunan performa produksi sebelum memasuki fase tua (Naranjo *et al.*, 2019). Dalam mengatasi permasalahan tersebut, perlu dilakukan analisis berpasangan untuk mengetahui dampak murni bertambahnya umur terhadap produksi embrio tanpa dipengaruhi variasi genetik antar individu.

Penggunaan data berpasangan dengan protokol hormonal yang terstandarisasi diharapkan dapat memberikan gambaran akurat mengenai dinamika penurunan produktivitas embrio sapi PO.

Penelitian ini bertujuan menganalisis perbedaan performa reproduksi sapi donor PO pada umur 6 tahun hingga umur 7 tahun dalam produksi embrio berdasarkan jumlah CL, koleksi embrio, serta kualitas embrio, sekaligus mengevaluasi stabilitas produksi embrio pada individu yang sama. Hal ini dilakukan untuk menilai konsistensi respon hormonal dan kematangan sistem reproduksi terhadap bertambahnya umur ternak. Hipotesis penelitian ini yaitu terdapat perbedaan performa produksi embrio antara sapi donor PO umur 6 tahun dan umur 7 tahun. Hasil penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi teoretis berupa data ilmiah mengenai hubungan umur dengan produktivitas embrio berkelanjutan dan profil respon ovarium sapi PO pada transisi menjelang akhir fase dewasa optimal. Penelitian ini bermanfaat sebagai dasar pengambilan keputusan bagi Balai Embrio untuk meningkatkan efisiensi anggaran dengan menekan risiko kegagalan superovulasi, serta memperkuat manajemen pencatatan performa donor untuk memprediksi keberhasilan produksi embrio pada periode selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sapi Potong

Sapi Potong merupakan ternak sapi yang dipelihara khusus dengan tujuan meningkatkan produksi dagingnya. Sapi potong menghasilkan produk daging terbesar dari jenis ternak potong lainnya (Priyanto, 2011). Sapi potong memiliki *Body Condition Score* (BCS) ideal pada 5-7 diperlihatkan dengan penampilan keseluruhan yang baik (Kurniawati *et al.*, 2024). Sapi potong dengan skor BCS tinggi memiliki konformasi perdagingan lebih tinggi dan memiliki potensi nilai jual lebih mahal (Sodiq dan Yuwono, 2016). Tingkat produktivitas sapi potong secara umum dapat dipengaruhi oleh faktor genetik, pakan, serta manajemen pemeliharaan. Berat sapi dewasa memiliki korelasi genetik positif dengan BCS yang menunjukkan bahwa kedua sifat ini berpengaruh terhadap manajemen seleksi genetik (Ribeiro, 2022).

Segala upaya peningkatan bobot badan sapi potong akan kembali sesuai dengan potensi genetik sapi tersebut (Priyanto, 2016). Oleh karena itu, kualitas genetik sapi potong perlu dikembangkan untuk meningkatkan produktivitas sapi potong di Indonesia salah satunya dengan perkembangan dibidang bioteknologi reproduksi. Sapi potong mencakup segala jenis sapi dari semua rumpun yaitu *Bos taurus* seperti sapi Limousin dan sapi Simmental, *Bos indicus* seperti sapi Brahman dan Ongole, serta sapi lokal yaitu *Bos sundaicus* seperti sapi Bali dan Madura.

2.2 *Bos indicus*

Rumpun sapi *Bos indicus* atau dikenal juga sebagai sapi zebu merupakan kelompok sapi domestik yang berasal dari daerah asia selatan (Hamdi, 2023). Rumpun sapi ini terkenal dengan ciri khas punuk di punggung dan gelambir di leher dengan fungsi untuk termoregulasi suhu pada tubuh (Widyarini *et al.*, 2025). *Bos indicus* memiliki kemampuan adaptasi termoregulasi yang lebih baik dibandingkan dengan sapi *Bos taurus* (Gaina *et al.*, 2021). *Bos indicus* memiliki karakteristik fisiologis yang berbeda dengan *Bos taurus*. Penelitian menyatakan bahwa *Bos indicus* memiliki jumlah folikel ovarium (antral) lebih banyak, ukuran folikel dominan maksimum yang lebih kecil dan ukuran CL yang lebih kecil dibandingkan dengan *Bos taurus* (Rios-Utrera *et al.*, 2020).

Bos indicus memiliki lebih banyak folikel yang direkrut per gelombang tetapi folikel dominan lebih kecil (Baruselli *et al.*, 2012). Banyaknya folikel antral dapat dihubungkan dengan jumlah CL dan koleksi embrio yang diperoleh. Sapi dengan *Antral Follicle Count* (AFC) tinggi cenderung menunjukkan efisiensi koleksi ovum (OPU) dan produksi embrio (IVP) yang lebih baik (Zangirolamo *et al.*, 2018). Hal ini dapat diartikan bahwa jumlah folikel antral tinggi berkaitan dengan jumlah ovum dan embrio yang diperoleh. Selain itu, sapi dengan jumlah folikel antral tinggi memiliki respon ovarium terhadap superovulasi lebih baik ditinjau dari banyaknya jumlah *corpus luteum* (CL) yang diperoleh (Gawai *et al.*, 2024). Sapi *Bos indicus* yang tersebar luas di Indonesia di antaranya sapi Brahman, sapi Ongole, dan sapi Peranakan Ongole (PO).

2.3 Sapi Peranakan Ongole

Sapi Peranakan Ongole (PO) adalah salah satu jenis sapi potong lokal dari rumpun *Bos indicus* yang tersebar luas di Indonesia. Sapi PO merupakan sapi persilangan melalui sistem *grading up* antara sapi Jawa dengan sapi Sumba Ongole (SO) sekitar tahun 1929 (Hartati *et al.*, 2015). Sapi PO memiliki kemampuan adaptasi lingkungan yang baik pada iklim tropis dan pakan berkualitas rendah (Putriyus *et al.*, 2021). Dalam bidang reproduksi, penelitian tentang produksi embrio transfer perlakuan superovulasi pada sapi PO menunjukkan jumlah *corpus luteum* (CL) dan koleksi jumlah embrio lebih tinggi dibandingkan sapi *Freisian Holstein* (Dwiyoga *et al.*, 2025). Penelitian lain menemukan bahwa produksi ovum dan embrio sapi PO secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan sapi *Belgian Blue* (Irma *et al.*, 2023). Namun, terdapat penelitian yang menunjukkan adanya tantangan terkait kualitas embrio yang dilihat dari proporsi embrio degenerasi yang lebih tinggi pada sapi PO (Damaris *et al.*, 2023). Hal ini dapat disebabkan oleh berbagai faktor yang mempengaruhi produksi embrio seperti lingkungan, perlakuan hormonal, kondisi individu ternak seperti umur fase produksi.

2.4 Sapi Betina

Sapi betina memiliki peran reproduksi sangat penting demi menjaga keberlangsungan dan keberlanjutan peternakan (Rumtily *et al.*, 2025). Reproduksi merupakan upaya menghasilkan keturunan yang bertujuan untuk mempertahankan keberadaan spesies di alam (Hoesni, 2017). Dalam menghasilkan keturunan,

peranan sapi betina lebih besar dibandingkan sapi jantan mulai dari menghasilkan ovum, melakukan perkawinan, melakukan fertilisasi, bunting, hingga partus setelah 9 bulan (Sutiyono, 2022). Kemajuan bioteknologi reproduksi seperti transfer embrio meningkatkan kontribusi sapi betina dalam program efisiensi pemuliaan mutu genetik (Rahmatillah *et al.*, 2024). Sapi betina yang memiliki mutu genetik unggul digunakan sebagai sapi donor transfer embrio untuk efisiensi pemuliaan genetik (Handarini dan Zamanti, 2018). Maka dari itu, selain fungsi utama sebagai induk, sapi betina juga menjaga keberlanjutan dan pengembangan kualitas genetik ternak yang berkontribusi pada peningkatan produktivitas industri peternakan. Salah satu sapi donor yang dikembangkan di BET adalah sapi Peranakan Ongole (PO).

2.5 Teknologi Transfer Embrio

Transfer Embrio (TE) merupakan generasi kedua pengembangan bioteknologi reproduksi setelah Inseminasi Buatan (IB), dimana keturunan yang diharapkan memiliki sifat unggul dari kedua induk baik jantan maupun betina (Yusnaweti, 2016). Bibit murni hasil TE dapat diperoleh dalam satu generasi dibandingkan IB yang memerlukan lima generasi, karena embrio yang ditransfer memiliki genetik murni dari kedua induk unggul. Anak sapi hasil TE secara langsung adalah murni turunan betina donor dan pejantan unggul (*Pedigree*), sedangkan pada IB untuk mendapatkan turunan mendekati murni (F5) dibutuhkan waktu sekitar 20-25 tahun (Hunter *et al.*, 1995). Embrio yang digunakan dalam TE dapat berupa embrio segar atau embrio beku (Setiadi *et al.*, 2007). Embrio yang digunakan dalam TE diperoleh dari produksi

embrio yang dibagi menjadi beberapa teknik seperti konvensional (*in vivo*), *Oocyte Pick Up* (OPU), dan *in vitro* (Yusnawati, 2016).

Produksi embrio *in vivo* digabungkan dengan superovulasi atau *Multiple Ovulation and Embryo Transfer* (MOET), pada satu ekor betina unggul dapat menghasilkan banyak embrio layak transfer sekaligus dalam satu program (Lubis *et al.*, 2021). Dengan menggunakan embrio dari betina unggul secara genetik kemudian mentransfer embrio yang telah dipanen ke dalam rahim betina yang memiliki kualitas genetik lebih rendah, dimungkinkan untuk menghasilkan lebih banyak anak sapi dari betina yang unggul secara genetik dan lebih sedikit anak sapi dari betina yang kurang bernilai secara genetik (Youngs, 2007). Performa ekonomi dan kualitas daging menunjukkan bahwa sapi hasil TE memiliki bobot potong jauh lebih berat, kualitas karkas lebih tinggi, serta efisiensi ekonomi lebih baik dibandingkan sapi yang hanya diproduksi melalui IB (Lee *et al.*, 2023). Namun, jumlah embrio dihasilkan setiap individu ternak setelah perlakuan superovulasi sangat bervariasi (Ningtias *et al.*, 2022). Dalam penerapan TE, embrio dikumpulkan dari induk betina donor kemudian dipindahkan ke induk resipien (pengganti) untuk meneruskan kebuntigan hingga partus (lahir).

2.6 Donor dan Resipien

Terdapat dua jenis indukan yang memiliki peran berbeda dalam teknologi Transfer Embrio (TE) yaitu induk donor dan induk resipien. Teknologi TE merupakan proses di mana embrio dikoleksi dari induk betina donor, kemudian dipindahkan dalam uterus induk betina resipien, tempat embrio tersebut menyelesaikan perkembangannya (Stroud, 2012). Induk betina donor merupakan

induk betina yang telah melalui seleksi sesuai kriteria dilakukan TE yang dijadikan sumber produksi embrio TE (Mebratu *et al.*, 2020). Seleksi donor harus berdasarkan pada tiga kriteria: keunggulan genetik, kemampuan reproduksi, dan nilai jual keturunannya (Fufa *et al.*, 2016). Donor yang lolos kriteria seleksi akan mendapatkan perlakuan manipulasi hormonal superovulasi untuk memicu produksi ovum dalam jumlah banyak, selanjutnya dilakukan pembuahan secara bersamaan (Mebratu *et al.*, 2020). Untuk memicu superovulasi, pada tahap awal donor diberi hormon gonadotropin (FSH) (Schmidt, 2010).

Induk betina resipien merupakan induk yang menerima embrio donor kemudian meneruskan kehamilan hingga partus (lahir) serta membesarkan anakan tersebut. Induk resipien dipilih berdasarkan status kesehatan reproduksi, mudah melahirkan, dan memiliki kemampuan produksi susu serta sifat maternal yang baik (Mebratu *et al.*, 2020). Untuk memaksimalkan keberhasilan transfer embrio, diperlukan sinkronisasi siklus estrus antara induk donor dengan induk resipien. Sinkronisasi estrus pada resipien dilakukan dengan menyerupakan kondisi estrus pada donor dengan ideal selisih tidak lebih dari satu hari (Galina dan Orihuela, 2007). Resipien disinkronisasi menggunakan prostaglandin $F2\alpha$ ($PGF2\alpha$) selama 12 hingga 24 jam sebelum sapi donor karena estrus yang diinduksi $PGF2\alpha$ akan terjadi pada resipien dalam 60 sampai 72 jam (Ganzebu, 2015). Induk donor akan melalui berbagai tahapan manipulasi hormonal untuk memproduksi embrio sebelum ditransfer ke induk resipien.

2.7 Folikulogenesis

Siklus Ovarium dibedakan menjadi dua yaitu fase folikuler atau fase pembentukan folikel hingga matang dan fase luteal atau fase setelah folikel matang terovulasikan (Trisunuwati, 2016). Selama fase siklus ovarium terjadi perubahan akibat perkembangan pada folikel mulai dari folikel primordial hingga setelah ovulasi menjadi CL yang disebut dengan proses folikulogenesis (Williams, 2022). Folikulogenesis dimulai dari Folikel Primordial dimana ovum di dalamnya kecil dan dikelilingi oleh satu lapis sel granulosa pipih (*squamous*) di atas membrane basalis (Rybska *et al*, 2018).

Pembelahan pertama ditandai dengan aktivasi awal dimana sebagian folikel menjadi transisional dan sel granulosa mulai membulat (*wedge* atau setengah kuboid) (Kubo *et al*, 2025). Sel granulosa berkembang menjadi 1-2 lapis dan menjadi bentuk kuboid, ovum di dalamnya mulai membesar membentuk zona pelusida glikoprotein di antara ovum dengan granulosa. Pada tahap ini, folikel disebut dengan folikel primer (Loverro *et al.*, 2025). Lapisan granulosa bertambah menjadi granulosa multipel dan ovum semakin membesar. Memasuki bentuk Folikel Sekunder, sel teka di luar membran basalis mengalami diferensiasi menjadi sel teka interna dan sel teka eksterna serta mulai tampak cairan antar sel granulosa yang akan membentuk antrum (Braga *et al.*, 2025).

Pada fase folikel antral, rongga antrum terbentuk jelas berisi cairan folikel yang membuat folikel menjadi lebih besar dan granulosa yang mengelilingi ovum terdiferensiasi menjadi *cumulus oophorus* dan *corona radiata* (Rybska, 2018). Menuju fase folikel preovulatory (*Graaf*) sel teka bertambah tebal, vaskularisasi sel

intens, folikel menjadi dominant (Fiorentino *et al.*, 2022). Hanya satu folikel antral yang berkembang hingga mencapai tahap *de Graaft*, folikel lain mengalami atresia (Feng *et al.*, 2018). Ketika terjadi lonjakan LH, folikel *de Graaft* akan mengalami ovulasi mengeluarkan ovum di dalamnya menjadi ovum. Proses ovulasi menyebabkan dinding folikel pecah mengeluarkan ovum dilapisi cumulus (ovum), ruang bekas folikel terisi pembekuan darah, jaringan granulosal dan teka mengalami luteinisasi (Murphy *et al.*, 2020; Smith *et al.*, 1994). Selama luteinisasi, granulosa dan teka berubah menjadi sel luteal Menyusun CL dan memproduksi hormon progesterone (Smith *et al.*, 1994).

2.8 Fertilisasi

Ovum yang bertemu dengan sperma akan melebur menjadi satu dalam proses fertilisasi. Proses ini merubah struktur ovum secara bertahap hingga menjadi zigot diploid. Sebelum bertemu sperma, ovum dikelilingi *cumulus* dan zona pelusida (ZP) dengan kortikal granula di bawah membran ovum (Tosti dan Ménéz, 2016). Sperma membutuhkan kapasitasi selama 6-8 jam sebelum bisa membuahi ovum (Dalton *et al.*, 2000; López-Gatius, 2022). Kapasitasi sperma memberi perubahan membran, hiperaktivasi motilitas, persiapan reaksi akrosom (Litscher dan Wassarman, 2025). Enzim akrosom yang terdapat di kepala sperma, dilepaskan untuk menembus lapisan pelindung ovum. Komposisi lipid membrane sperma diubah agar dapat melebur dengan ovum.

Glikoprotein zona pelusida (ZP 2 dan ZP 3) menjadi reseptor sperma memicu reaksi pelepasan enzim akrosom supaya sperma menembus ZP menuju

previtelin (Suzuki, *et al.*, 2021; Tosti dan Ménézo, 2016). Setelah satu kepala sperma berhasil melekat kuat, terjadi aktivasi ovum (zona *hardening*) pada ZP 2 supaya sperma lain tidak menembus (blokade polispermi) (Flesch dan Gadella, 2000). Kepala sperma mengalami de-kondensasi membentuk pronukleus, ovum menyelesaikan meiosis II membentuk pronukleus, kedua pronukleus melebur membentuk struktur menjadi zigot (Khan *et al.*, 2024). Zigot selanjutnya akan masuk ke tahap pembelahan dan perkembangan sel blastomer menjadi embrio.

2.9 Produksi Embrio *in vivo*

Produksi embrio secara *in vivo* merupakan salah satu teknik produksi embrio dimana pembentukan embrio berlangsung dalam tubuh alat reproduksi induk donor (Yusnawati, 2016). Embrio beku yang digunakan dalam TE dihasilkan dari serangkaian proses produksi pada induk donor mulai dari sinkronisasi folikel, superovulasi, IB program, koleksi embrio, dan evaluasi embrio (Liamanu *et al.*, 2018).

2.7.1 Sinkronisasi folikel

Superovulasi konvensional dapat dimodifikasi dengan menggabungkan sinkronisasi folikel sebelum perlakuan pemberian hormon perangsang folikel (FSH). Sinkronisasi folikel merupakan program modifikasi menggunakan kombinasi CIDR (*Controlled Internal Drug Releasing*) untuk mempermudah persiapan sebelum perlakuan superovulasi (Jodiansyah *et al.*, 2013). CIDR diberikan untuk menekan LH dan mengontrol dinamika folikel (Mapletoft *et al.*, 2018). Sinkronisasi folikel bertujuan untuk menghilangkan folikel dominan dan menyeragamkan gelombang

folikel supaya banyak folikel antral yang dapat berkembang ketika proses superovulasi (Setiawan *et al.*, 2017). Sinkronisasi folikel dapat memastikan pemberian FSH dimulai pada waktu yang tepat yaitu saat munculnya gelombang folikel baru (Mapletoft *et al.*, 2002). Lingkungan hormonal menjadi lebih stabil berkat CIDR yang membuat FSH dapat bekerja secara optimal pada gelombang folikel yang baru (Mahmood *et al.*, 2021).

2.7.2. Superovulasi

Secara alamiah, dalam satu periode ovulasi hanya melepaskan 1-2 butir sel telur (Yamin *et al.*, 2021). Namun, dengan program superovulasi terhadap sapi donor mendapatkan sel telur lebih banyak dari kondisi alamiah dengan modifikasi hormonal (Setiawan *et al.*, 2017). Superovulasi merupakan perlakuan pada sapi donor untuk mendapatkan ovum lebih banyak dari kondisi normal dengan memberikan perlakuan tertentu (Setiawan *et al.*, 2017). Hormon yang digunakan dalam program superovulasi yaitu FSH (*Folikel Stimulating Hormon*). Kehadiran FSH mendukung folikel-folikel subordinat yang seharusnya mengalami atresia menjadi berkembang (Mapletoft dan Bo, 2011).

Metabolisme FSH setelah di injeksi pada sapi donor relatif cepat dengan biopotensi 2-5 jam dan dalam darah keberadaannya sudah tidak terdeteksi setelah 10-12 jam, sehingga protokol superovulasi diperlukan penyuntikan FSH secara berulang pada interval waktu tertentu (Imron, 2016). Injeksi FSH dilakukan berulang (protokol 3 hari dan protokol 4 hari) dengan dosis menurun. Pengurangan dosis FSH secara bertahap dapat membantu proses pematangan akhir folikel tanpa stimulasi berlebihan

dan mengganggu kualitas multipel ovum yang diperoleh (Ba-Awadh *et al.*, 2024). Protokol injeksi FSH 3 hari memberikan respon superovulasi dan jumlah embrio yang sebanding dengan protokol 4 hari, sehingga lebih efisien (Farin *et al.*, 2008).

2.7.2. Inseminasi buatan program

Setelah pencabutan preparat progesteron, dua hari kemudian dilakukan IB (Subchan dan Handarini, 2016). Hal ini dikarenakan selama 48 jam, kondisi ovarium akan memasuki fase estrus dan donor akan mengalami birahi. Setelah 8-12 jam fase estrus, sapi donor baru dapat dilakukan IB program. IB yang terlalu dekat dengan waktu ovulasi tidak memberi kesempatan pada sperma untuk melakukan kapasitasi, jika IB dilakukan sebelum ovulasi banyak sperma hilang (*retrograde loss*) (Monteiro *et al.*, 2018). Penerapan IB program dilakukan tiga kali untuk mengoptimalkan fertilisasi menyeluruh ke semua ovum (Kardaya, 2016). Perlakuan IB dilakukan berturut-turut dengan interval 8-12 jam. Interval 8-12 jam membantu menjaga populasi sperma untuk kapasitasi (6-8 jam) sebelum bisa membuahi ovum (Dalton *et al.*, 2000; López-Gatius, 2022).

2.7.3. Koleksi embrio

Setelah 7 hari pasca IB program pertama, dilakukan koleksi embrio untuk mengumpulkan embrio dari dalam tubuh ternak donor (Darlian *et al.*, 2021). Koleksi embrio dilakukan dengan metode pembilasan (*flushing*) menggunakan media ke dalam tubuh ternak donor kemudian dikeluarkan kembali dengan harapan semua embrio dapat tertampung dalam media (Subchan dan Handarini, 2016). Embrio yang diperoleh kemudian dihitung jumlahnya dan dilakukan evaluasi meliputi

penghitungan jumlah total embrio yang dihasilkan dari setiap individu donor, penilaian fase perkembangan embrio, dan penilaian kualitas embrio yang bertujuan untuk memastikan embrio yang diproduksi layak untuk transfer (Ningtias *et al.*, 2022). Namun, jumlah embrio dihasilkan setiap individu ternak setelah perlakuan superovulasi sangat bervariasi (Ningtias *et al.*, 2022). Salah satu penyebab kualitas embrio rendah yaitu populasi folikel primordial ovarium yang rendah dan tingkat atresia folikel yang tinggi (Ireland *et al.*, 2007). Cadangan folikel ovarium tersebut berkorelasi secara negatif dengan bertambahnya umur (Bhardwaj, 2021).

2.10 Faktor Pertambahan Umur

Umur sapi donor merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi produktivitas reproduksi (Subchan *et al.*, 2016). Hubungan antara umur dengan produktivitas reproduksi tidak linear dimana produktivitas cenderung meningkat dari umur muda (≤ 4 tahun), mencapai puncak produksi pada umur dewasa (5-7 tahun), kemudian menurun pada umur tua (≥ 8 tahun). Umur induk sapi yang semakin tua akan terjadi penurunan fungsi dan organ-organ reproduksi dalam memproduksi hormon (Rusadi *et al.*, 2015). Sapi dewasa (5-7 tahun) memiliki performa reproduksi lebih baik dibandingkan sapi muda dan sapi tua (Restle, 2001). Perkembangan ovum secara negatif mengalami penurunan kualitas sel yang dapat dipengaruhi oleh bertambahnya umur induk donor (Dadarwal, 2024).

Umur secara signifikan mempengaruhi jumlah embrio layak transfer dan jumlah ovum yang tidak layak dibuahi, namun tidak mempengaruhi jumlah total koleksi (Isnaini *et al.*, 2024). Berdasarkan pernyataan tersebut, menunjukkan bahwa

bertambahnya umur lebih berdampak pada kualitas dan fertilitas ovum serta kemampuan untuk berkembang menjadi embrio normal dibandingkan dengan berapa jumlah ovum yang dapat diovulasikan. Sapi PO menunjukkan waktu pubertas yang lebih lama yaitu sekitar 22 bulan (Christi, 2017). Pertumbuhan tubuh mempunyai korelasi yang positif terhadap pertumbuhan alat-alat reproduksi (Sutiyono *et al.*, 2006). Sapi PO memiliki laju pertumbuhan yang lebih lambat dibandingkan dengan sapi Simmental dan Limousin yang menyebabkan pubertasnya tertunda (Adriani *et al.*, 2018). Bertambahnya umur dapat berdampak pada perubahan fisiologis pada induk sapi donor.

2.10.1. Fisiologis umur dewasa optimal

Induk sapi donor telah mengalami masa kebuntingan pertama setelah umur 3 tahun ke atas. Di Indonesia, rata-rata umur pubertas dan umur pertama kali kawin pada sapi betina PO berkisar antara 22 hingga 28 bulan (± 2 hingga 2,5 tahun) (Christi, 2018) sehingga umur pertama kali beranak rata-rata mencapai 35 hingga 39 bulan (± 3 hingga 3,5 tahun) (Sumiyanti, 2023). Pada umur 3 hingga 7 tahun, kualitas sel telur mencapai tingkat kematangan yang sempurna (*oocyte developmental competence*). Sapi pada kategori umur ini mampu memproduksi jumlah folikel, total ovum, dan ovum yang berhasil membelah (*cleaved oocytes*) jauh lebih banyak dibandingkan pedet maupun sapi dara (Silva, 2022). Sapi dewasa mampu menghasilkan ovum dengan sitoplasma yang sepenuhnya matang dan siap dibuahi (Magata, 2018). Sebaliknya, pada sapi yang lebih muda (pedet atau dara), ovum sering kali belum matang secara genetik dan struktural, sehingga tingkat

keberhasilan berkembang menjadi embrio (blastosis) lebih rendah (Kawamoto, 2022). Pada sapi berumur tua, ovum mulai mengalami kerusakan akibat akumulasi mutasi genetik dan kelainan kromosom (Chasi, 2025).

Sapi dara (< 3 tahun) masih dalam fase pertumbuhan fisik, sehingga energi dari pakan harus dibagi antara untuk pertumbuhan tubuhnya sendiri dan untuk fungsi reproduksi (Restle, 2001). Ketika sapi mencapai usia 3 tahun, laju pertumbuhan fisiknya sudah selesai karena telah mencapai bobot badan dewasa. Akibatnya, energi metabolik dan nutrisi dapat difokuskan sepenuhnya untuk fungsi reproduksi, menjaga *Body Condition Score* (BCS). Sapi dewasa optimal belum mengalami kerusakan seluler (penuaan) yang terjadi pada sapi tua. Pada sapi tua, sering ditemukan tingkat pembuahan yang abnormal, penurunan fungsi mitokondria penyedia energi embrio, serta tingginya tingkat embrio yang gagal berkembang (Magata, 2017). Sapi dewasa optimal memiliki lingkungan mikro ovarium (cairan folikel) yang sangat ideal, kaya akan metabolit, glukosa, dan asam amino yang berfungsi memprogram pematangan sel telur dan memastikan embrio memiliki energi (ATP) yang cukup (Moorey, 2024). Selain itu, profil endokrin (seperti hormon LH dan FSH) pada sapi dewasa beroperasi secara stabil dibandingkan pada sapi yang belum pubertas (Kawamoto, 2022). Hal ini memastikan siklus berahi dan gelombang folikel berjalan teratur.

2.10.2. Fisiologis folikel ovarium

Mamalia termasuk ternak sapi memiliki cadangan ovarium yang terdiri dari folikel primordial terbentuk sejak awal perkembangan (sebelum lahir) dan

jumlahnya sudah tetap (Moyd, 2025). Populasi folikel primordial secara alami akan terus menyusut seiring bertambahnya usia karena proses atresia folikel (degenerasi) dan rekrutmen folikel (Bochyńska, 2025). Meskipun umur 6-7 tahun masih dianggap produktif, penurunan jumlah folikel yang terjadi setiap tahun akan mengurangi jumlah total ovum yang dapat diambil dan berpotensi untuk berkembang menjadi embrio. Selain ovulasi, faktor lain yang menguras cadangan folikel seiring bertambahnya usia adalah atresia folikel (Bhardwaj, 2021; Moyd, 2025). Atresia adalah proses kematian sel terprogram (apoptosis) dan autofagi di mana folikel ovarium mengalami degradasi dan mati sebelum mencapai tahap ovulasi (Bhardwaj, 2021). Sebagian besar folikel di ovarium sapi pada akhirnya akan mati melalui proses atresia dan tingginya tingkat kejadian atresia berkontribusi besar terhadap penyusutan cepat cadangan ovarium seiring bertambahnya umur ternak (Smith, 2003).

Penelitian pada ternak sapi *Bos indicus* (ras Gyr), pada interval umur 3 sampai dibawah umur 6 tahun menunjukkan konsistensi dalam recovery rate ovum tinggi dan viabilitas ovum baik karena cadangan ovarium dan kadar hormon AMH tinggi (Machado, 2023). Anti-Müllerian Hormone (AMH) adalah hormon yang diproduksi secara eksklusif oleh sel-sel granulosa dalam folikel ovarium yang sedang berkembang (preantral dan antral kecil) (Ramesha, 2022). Konsentrasi AMH di dalam aliran darah terbukti memiliki korelasi positif yang sangat kuat dengan jumlah populasi folikel antral (*Antral Follicle Count* atau AFC) yang cerminan langsung dari total cadangan ovarium (Batista, 2014). Semakin tinggi kadar AMH seekor sapi, semakin besar cadangan ovarium yang dimilikinya, yang

berarti sapi tersebut akan memberikan respons yang lebih baik terhadap program superovulasi dan menghasilkan lebih banyak embrio (Mossa, 2019). Sapi betina *Bos indicus* secara genetik memiliki populasi folikel antral (AFP) sekaligus konsentrasi hormon AMH plasma yang secara signifikan lebih tinggi dari pada *Bos taurus* (Batista, 2014). Terdapat korelasi negatif yang signifikan antara umur dan paritas (jumlah melahirkan) dengan kadar AMH; ketika sapi memasuki fase tua, terjadi penurunan drastis pada konsentrasi AMH yang menandakan bahwa cadangan ovarium telah sangat berkurang (Mudamanasu, 2025).

2.11 Indikator Keberhasilan Embrio

2.11.1. *Corpus luteum*

Corpus luteum (CL) merupakan cangkang folikel yang pecah kemudian lepas dari ovum yang telah terovulasikan (Supriatna, 2018). Dalam superovulasi, injeksi *follicle stimulating hormone* (FSH) merangsang pertumbuhan banyak folikel sehingga jumlah ovum ovulasi dan CL meningkat. Pengaruh FSH tidak selalu linier terhadap jumlah ovum ovulasi dan CL yang dipengaruhi oleh respon individu terhadap dosis optimal (Karl *et al.*, 2019). Jumlah CL yang lebih tinggi umumnya berkorelasi dengan koleksi embrio yang lebih banyak (Kawamata, 1944). Semakin banyak CL yang terbentuk, semakin tinggi kemungkinan ovum yang diovulasikan (Dwiyoga *et al.*, 2025).

Sapi donor dengan cadangan folikel antral tinggi, variasi dosis FSH tidak selalu mengubah signifikan terhadap jumlah CL, walaupun dapat mempengaruhi jumlah dan kualitas embrio (Afriani *et al.*, 2021). Pada beberapa kasus, dosis FSH

yang terlalu tinggi tidak meningkatkan jumlah CL dan menghambat fungsi folikel ovulasi (Karl *et al.*, 2020). Sapi dengan tingkat hormon AMH tinggi berkorelasi positif dengan jumlah CL lebih banyak (Koca *et al.*, 2024). Donor dengan AFC dan kadar AMH tinggi menghasilkan CL dan embrio lebih banyak pada perlakuan dosis FSH yang sama dibandingkan jenis lain (Gawai *et al.*, 2024).

2.11.2. Response rate

Response rate merupakan salah satu parameter dalam evaluasi keberhasilan produksi embrio transfer yang menggambarkan tingkat respon terhadap jumlah donor yang disuperoovulasi (Jodiansyah *et al.*, 2013). *Response rate* dilakukan dengan menghitung perbandingan jumlah ternak donor yang memberikan respon superovulasi terhadap total ternak yang diberi perlakuan superovulasi (Liamanu *et al.*, 2018). Respon superovulasi didefinisikan sebagai adanya lebih dari satu CL pada ovarium yang menandakan terjadinya ovulasi ganda (Cabrera *et al.*, 2013). CL merupakan cangkang folikel pecah dan lepas dari ovum yang telah terovulasikan (Supriatna, 2018). Tingkat respon superovulasi berdasarkan jumlah CL dari kedua ovarium (Afriani *et al.*, 2019). Donor yang disuperoovulasi dianggap memberikan respon apabila memiliki CL lebih dari sama dengan 3 (Hussein *et al.*, 2014). Pemeriksaan keberadaan CL dapat dilakukan dengan metode palpasi rektal atau menggunakan bantuan alat USG (Melia *et al.*, 2013). Response rate sapi PO memperoleh hasil sebesar 100% (Tanmaela *et al.*, 2019) sedangkan pada sapi Belgian Blue dapat mencapai 100% dengan menggunakan pada metode

superovulasi konvensional dan 75% pada metode suntikan tunggal (Darlian *et al.*, 2021).

2.11.3. Koleksi embrio

Koleksi embrio merupakan salah satu tahap dalam produksi embrio transfer yang bertujuan untuk mengumpulkan embrio dari sapi donor setelah diberi perlakuan superovulasi dan inseminasi buatan (IB). Proses koleksi embrio dilakukan pada hari ke-7 setelah dilakukan IB pertama (Darlian *et al.*, 2021). Hal ini dilakukan untuk menyesuaikan dengan fase embrio yang dikoleksi. Embrio berkembang menjadi blastokista pada hari ke-7 dan menetas dari zona pelusida pada hari ke-8 hingga ke-9 untuk berkembang ke fase berikutnya (Talukder *et al.*, 2020). Total koleksi embrio yang diperoleh merupakan jumlah keseluruhan struktur yang diperoleh setelah flushing uterus donor terdiri dari gabungan sel ovum tidak terbuahi dan semua embrio yang terbentuk dalam satu kali perlakuan superovulasi (Gaddis *et al.*, 2017).

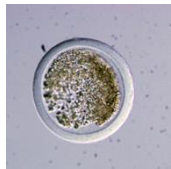
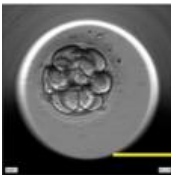
Koleksi embrio dapat dilakukan dengan berbagai metode salah satunya yaitu dengan cara *non surgical* melalui *flushing* atau pembilasan. *Flushing* dilakukan dengan membilas uterus menggunakan medium khusus untuk mengumpulkan embrio tanpa pembedahan (*non-surgical*) (Darlian *et al.*, 2021). Proses *flushing* dapat mempengaruhi perolehan total koleksi embrio yang didapat. Posisi yang benar dalam menempatkan *folley catheter* ketika *flushing* yaitu mendekati ujung koruna uteri dekat ovarium di mana akan meningkatkan jumlah embrio yang terkoleksi (Willey, 2017). *Flushing* pada bagian *oviduct* dan *uterine*

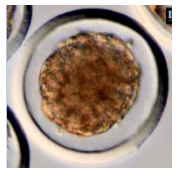
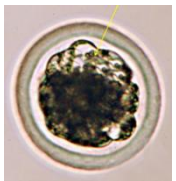
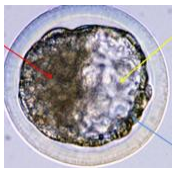
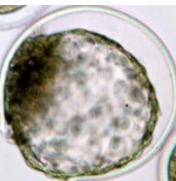
horn pada sapi donor superovulasi dapat meningkatkan jumlah ovum dan embrio koleksi dibandingkan hanya membilas pada *uterine horn* saja (Havlicek, 2010). Selain itu, koleksi embrio juga dapat dipengaruhi oleh BCS donor dan musim dilakukan produksi. Sapi donor dengan BCS optimal (3,5-4,0) menghasilkan total koleksi embrio tinggi; musim panas dapat menurunkan tingkat respon superovulasi yang mempengaruhi total koleksi embrio (Cabrera *et al.*, 2014).

2.11.4. Kualitas Embrio

Setelah melalui proses filtrasi, embrio dikoleksi dan dihitung kemudian dievaluasi berdasarkan fase dan kualitasnya sesuai dengan pedoman *International Embryo Transfer Society* 2010 (IETS 2010) (Yasri *et al.*, 2017). Fase perkembangan embrio dibagi berdasarkan perubahan struktur selnya. Klasifikasi IETS didasarkan pada penilaian visual karakteristik morfologi embrio yang terdiri dari bentuk, ukuran, kepadatan blastomer, bentuk zona pelusida, keberadaan vakuola, dan bagian yang mengalami degenerasi (destruksi) pada embrio (Robbaani *et al.*, 2024). Fase perkembangan embrio berdasarkan IETS 2010 yaitu sebagai berikut :

Tabel 1. Fase Perkembangan Embrio

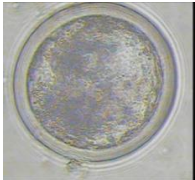
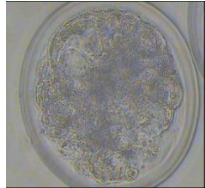
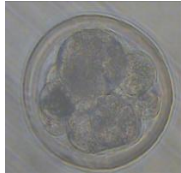
Kode	Fase Perkembangan	Karakteristik	Gambar
1	<i>Unfertilized</i>	Tidak terdapat tanda-tanda pembuahan (fertilisasi) pada ovum, masih memiliki sel tunggal besar dengan inti yang jelas, zona pelusida masih utuh.	
2	<i>Cleavage stage</i>	Embrio mengalami pembelahan mitosis menjadi 2 sampai 16 sel blastomer. Blastomer tampak seperti kumpulan sel kecil bervariasi ukurannya.	

Kode	Fase Perkembangan	Karakteristik	Gambar
3	<i>Early Morula</i>	Blastomer menyatu satu sama lain, sel mengalami kompaksi (pemadatan) namun masih terdapat ruang di antara beberapa sel. Dalam tahap ini zona pelusida masih utuh.	
4	<i>Morula</i>	Massa sel lebih rekat dan padat dari sebelumnya, morfologi menyerupai bola padat yang berada di dalam zona pelusida.	
5	<i>Early Blastocyst</i>	Mulai terbentuk rongga berisi cairan (blastosol) di tengah massa morula, rongga masih tersebut masih kecil, zona pelusida masih utuh dan mulai terlihat <i>inner cell mass</i> (ICM)	
6	<i>Blastocyst</i>	Rongga blastosol lebih besar dan terisi penuh, ICM terlihat lebih jelas di satu sisi dikelilingi oleh lapisan luar sel (<i>trophectoderm</i>), masih terdapat zona pelusida.	
7	<i>Expanded Blastocyst</i>	Ukuran embrio lebih besar, volume blastosol lebih lebar hampir memenuhi sebagian besar embrio, hal ini menyebabkan zona pelusida mengalami lisis menjadi tipis dan transparan.	
8	<i>Hatched Blastocyst</i>	Embrio menembus keluar dari zona pelusida untuk persiapan proses implantasi. Zona pelusida mulai pecah atau hilang sebagian menyebabkan embrio tidak lagi berbentuk bulat sempurna.	
9	<i>Expanded Hatched Blastocyst</i>	Embrio keluar sepenuhnya dan mengembang ukurannya di luar zona pelusida.	

Kualitas embrio dibagi menjadi empat kode *grade* yaitu *grade* kualitas 1 untuk *excellent or good*, *grade* kualitas 2 untuk *fair*, *grade* kualitas 3 untuk *poor*,

dan *grade* kualitas 4 untuk *dead or degenerate*. Embrio dengan kategori *excellent*, *good*, *fair*, dan *poor* termasuk dalam kriteria layak transfer, sedangkan *degenerative* dan *unfertilized* tidak layak transfer (Maulana, 2019). *Grade* embrio berdasarkan IETS (2010) dikategorikan sebagai berikut :

Tabel 2. *Grading* Embrio

Kode	<i>Grade</i> Embrio	Keterangan	Gambar
1	Sangat baik atau Baik (<i>Excellent or Good</i>)	Embrio berbentuk simetris dan bulat, sel-sel blastomer memiliki ukuran warna kepadatan yang seragam, Keutuhan sel minim ketidak teraturan paling sedikit 85% dan merupakan massa embrio yang viable, zona pelusida halus tidak terjadi konkaf.	
2	Cukup (<i>Fair</i>)	Tingkat ketidak teraturan sedang dalam semua bentuk massa embrio atau dalam ukuran, warna dan kepadatan dari sel-sel embrio. Setidaknya paling sedikit 50% selular material harus utuh dan merupakan massa embrio viabel.	
3	Buruk (<i>Poor</i>)	Tingkat ketidak teraturan parah dalam semua bentuk massa embrio atau dalam ukuran, warna dan kepadatan dari sel-sel embrio. Paling sedikit 25% selular material harus utuh dan merupakan massa embrio yang viabel	
4	<i>Dead</i> atau <i>degenerating</i>	Embrio yang mengalami degenerasi, ovum, atau embrio-embrio satu sel atau tidak viabel.	

Penilaian kualitas embrio dikelompokkan ke dalam 3 kelompok yaitu embrio Layak Transfer (LT), Embrio Degerasi (DG), dan ovum tidak terfertilisasi (UF) (Darlian *et al.*, 2021). Embrio dinyatakan layak transfer (LT) adalah embrio

embrio yang mencapai perkembangan fase 4 sampai dengan fase 9 dan memiliki *grade* kualitas 1, 2, dan 3 (Ningtias *et al.*, 2022). Embrio *Degenerative* (DG) adalah embrio yang memiliki dua hingga dua belas sel dengan perkembangan sel yang sangat lambat sehingga dianggap mati atau degenerasi (Phillips dan Jahnke, 2016). Ovum *unfertilized* (UF) adalah ovum gagal menjadi embrio karena hanya memiliki satu inti tanpa terlihat adanya tanda-tanda pembelahan sel (Sartori *et al.*, 2002).

2.9.1. Recovery rate

Recovery rate merupakan salah satu parameter dalam keberhasilan produksi embrio yang digunakan untuk menilai efisiensi perolehan embrio yang terkoleksi setelah perlakuan koleksi embrio hasil dari superovulasi dan inseminasi program (Setiawan *et al.*, 2017). *Recovery rate* disebut juga nilai perolehan kembali embrio yang menggambarkan ovum setelah proses ovulasi terjadi (Jodiansyah *et al.*, 2013). Perhitungan *recovery rate* dilakukan dengan membandingkan jumlah embrio yang terkoleksi dibagi dengan jumlah CL (Darlian *et al.*, 2021). Rata-rata *recovery rate* pada sapi donor yang dilakukan koleksi embrio metode *non-surgical* sekitar 68,2-74% (Setiawan *et al.*, 2017). Nilai *recovery rate* yang baik berada pada rentang 40% sampai 80% (Supriatna, 2018). Namun sebuah penelitian pada sapi PO menunjukkan hasil *recovery rate* tinggi sebesar 95,32% (Dwiyoga *et al.*, 2025). Faktor-faktor yang mempengaruhi tingkat keberhasilan *recovery rate* meliputi kualitas sperma dan ovum, kondisi organ reproduksi, kesehatan ternak, serta keterampilan teknis dan metode yang digunakan dalam prosedur produksi embrio (Efendy dan Luthfi, 2019).

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dengan judul “Perbandingan Performa Produksi Embrio Sapi Peranakan Ongole (PO) Donor Individu yang Sama pada Umur Yang Berbeda” dilaksanakan dalam dua tahap. Tahap pertama, pengambilan data dilakukan pada bulan November 2025 – Januari 2026 di Balai Embrio Ternak, Cipelang, Kabupaten Bogor, Jawa Barat. Tahap kedua, analisis data dilaksanakan di Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Kota Semarang, Jawa Tengah.

3.1. Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu data sekunder produksi embrio yang belum diolah. Data sekunder diambil melalui arsip *recording* produksi tahunan di BET. Data sekunder terdiri dari 10 data produksi dari 5 ekor sapi donor PO pada umur 6 dan umur 7 tahun yang diproduksi pada rentang tahun 2019-2023, berpasangan pada individu yang sama, Hal ini dilakukan untuk menilai konsistensi respon hormonal dan kematangan sistem reproduksi. Sapi pada umur di luar kriteria tersebut tidak ikut sertakan dalam penelitian guna menjaga homogenitas data dan menghindari bias yang disebabkan oleh perbedaan jenis atau dosis hormon yang digunakan pada tahun-tahun setelahnya. Data sekunder mencakup identitas donor, tanggal koleksi embrio, jumlah CL, total embrio koleksi, dan jumlah kualitas embrio layak transfer maupun tidak layak transfer. Selanjutnya, dilakukan analisis statistik berdasarkan parameter yang di uji.

3.2. Metode

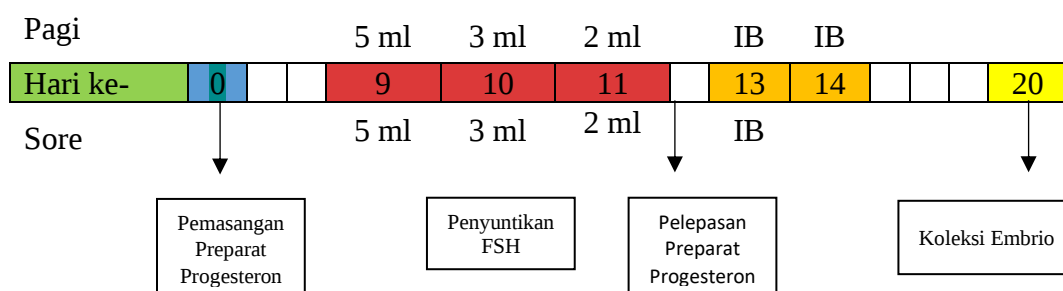
Metode yang digunakan dalam penelitian yaitu observasi dengan melakukan evaluasi data *recording* produksi embrio untuk membandingkan performa sapi donor pada kelompok umur yang berbeda. Penelitian ini difokuskan pada perbandingan performa individu berdasarkan perbedaan produktivitas pada umur 6 dan umur 7 tahun. Urutan penelitian ini terdiri dari pra-penelitian, pengumpulan data, parameter penelitian, dan analisis data.

3.2.1. Pra-penelitian

Pra-penelitian merupakan tahapan dilakukan sebelum penelitian yang bertujuan untuk memperoleh gambaran umum pelaksanaan penelitian sebelum studi utama dilakukan. Tahap pertama, diawali identifikasi permasalahan yang relevan dengan topik penelitian terkait dinamika data produksi di lapangan. Tahap kedua, pendalaman masalah lapangan melalui studi literatur untuk membangun kerangka teori dan pendekatan analisis yang digunakan dalam penelitian. Tahap ketiga, menyusun rancangan penelitian meliputi penentuan objek penelitian, jenis data, serta metode analisis yang akan diterapkan. Tahap akhir, dilakukan observasi awal untuk memastikan kesesuaian antara rancangan penelitian dengan kondisi aktual di lapangan. Hasil observasi awal menunjukkan bahwa pada bulan November 2025 – Januari 2026 kegiatan produksi di BET sedang memasuki periode produksi akhir tahun sehingga tidak memungkinkan dilakukan pengambilan data primer. Penelitian ini pada akhirnya difokuskan menggunakan analisis pada data sekunder yang tersedia dan relevan dengan tujuan penelitian.

3.2.2. Tahap produksi embrio

Data sekunder embrio yang dibutuhkan dalam penelitian diperoleh dari hasil penerapan prosedur produksi embrio transfer yang ada di BET. Prosedur produksi embrio transfer yang diterapkan di BET dibagi menjadi dua metode yaitu metode penyuntikan FSH 3 hari dan metode penyuntikan FSH 4 hari. Metode produksi embrio yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode penyuntikan FSH 3 hari sesuai ketersediaan data sekunder. Tahapan produksi embrio metode penyuntikan FSH 3 hari, mulai dari sinkronisasi folikel hingga koleksi embrio disajikan dalam skema tabel berikut :



Ilustrasi 1. Bagan Protokol Produksi Embrio Penyuntikan FSH 3 hari

3.2.2.1. Sinkronisasi folikel dan superovulasi

Sinkronisasi folikel menggunakan mekanisme hormon progesteron bertujuan untuk melisiskan folikel *de Graft* dan menyerentakkan perkembangan folikel primer. Pemasangan hormon progesteron menggunakan preparat progesteron *intravaginal*. Preparat progesterone masuk ke dalam vagina menggunakan bantuan alat *Controlled Internal Drug Release (CIDR)* yang diberi

pelumas isotonik. Pemasangan preparat progesteron intravaginal selama 11 hari, hari pemasangan dihitung pada hari ke 0 (H0).

Proses superovulasi terjadi ketika mulai dilakukan penyuntikan FSH. FSH yang digunakan berasal dari merk Foltropin-V®. Penyuntikan FSH dimulai pada hari ke 9 (H9) setelah pemasangan preparat progesterone. Dosis FSH yang digunakan sebanyak 400 mg yang dilarutkan ke dalam 20 mL pelarut. Penyuntikan FSH dilakukan secara bertahap dengan penurunan dosis selama 3 hari berturut-turut diwaktu pagi dan sore hari. Perbandingan penurunan dosis antara pagi sore yaitu 5:5 mL pada hari pertama, 3:3 mL pada hari kedua, dan 2:2 mL pada hari ketiga. Hari ke-3 setelah penyuntikan FSH pada H11, pagi hari disuntik dengan PGF2 α sebanyak 2 mL dan sore harinya dilakukan pelepasan preparat progesteron.

3.2.2.2. Inseminasi buatan program

Ternak donor yang telah dilakukan pelepasan preparat progesterone selama 48 jam akan memasuki fase estrus folikular dimana diasumsikan bahwa ternak donor menunjukkan tanda-tanda birahi dan siap dilakukan Inseminasi Buatan (IB) program. IB program memiliki perbedaan dengan pelaksanaan IB umumnya. IB program dilakukan sebanyak 3 kali berturut-turut dengan interval waktu 8-12 jam. Apabila IB pertama dilakukan pagi, maka IB kedua dilakukan sore dan IB ketiga dilakukan pagi dihari berikutnya. Metode PIB dimulai dengan fiksasi ternak dikandang jepit. *Thawing* straw semen beku menggunakan air hangat (34°C - 36°C). Setelah *thawing*, *straw* semen dikeringkan menggunakan tissue, dimasukan ke dalam IB gun, kemudian ditutup menggunakan plastik *sheat* IB. Proses IB

dilakukan secara *rectovaginal* dengan cara tangan kiri dimasukan kedalam rektum untuk memanipulasi servik sedangkan tangan kanan memasukan IB gun melalui vulva. Deposisi semen dilakukan setelah IB gun melewati cincin ke empat servik.

3.2.2.3. Koleksi embrio

Koleksi embrio dilakukan 7 hari setelah dilakukan IB program. Sebelum dilakukan koleksi embrio, dilakukan pengecekan kondisi ovarium dengan cara mendeteksi keberadaan *corpus luteum* (CL). Ternak yang memberikan respon superovulasi ditandai dengan adanya CL sebanyak lebih dari sama dengan 3. Ternak yang memberikan respon superovulasi dilakukan handling dan fiksasi pada kandang jepit. Pembersihan kotoran dari rektum dilakukan dengan cara mengeluarkan fases hingga bersih. Anastesi lokal diberikan dengan cara penyuntikan anastesi epidural. Penyuntikan dilakukan diantara tulang sacral dan tulang ekor 1, kemudian dilakukan fiksasi terhadap ekor ternak. Vulva dibersihkan menggunakan air bersih dan kapas alkohol lalu dikeringkan menggunakan tissue.

Selanjutnya dilakukan manipulasi serviks menggunakan *serviks expander* untuk memudahkan pembukaan serviks. Kemudian kateter foley dimasukan menggunakan bantuan *stilet* dan diposisikan dalam sepertiga apeks depan kornua uteri kiri/kanan dan balon catheter di isi udara sesuai dengan besar diameter lumen uterus (10-15 ml) dengan menggunakan spuit 20cc. Stilet dikeluarkan, kemudian ujung luar kateter foley disambung dengan selang Y yang menghubungkan kateter foley dengan media *flushing* dan botol hasil *flushing*. *Flushing* dilakukan dengan cara membilas kornua uteri secara berulang-ulang menggunakan media *flushing*

dengan volume setiap pembilasan antara 10-60 ml (sesuai kapasitas kornua uteri), hal tersebut dilakukan sampai media *flushing* habis, kegiatan tersebut dilakukan pada kornua uteri kanan dan kiri secara bergantian. Hasil *flushing* ditampung dalam wadah media *flushing* kemudian segera dibawa ke laboratorium untuk segera dilakukan evaluasi. Setelah selesai flushing, uterus dimasukan iodine sebanyak 50 ml menggunakan *intrauterine injector (gun spool)* dan diinjeksi dengan preparat *Prostaglandin F2 alpha (PGF2 α)* sebanyak 1 (satu) dosis.

3.2.2.4. Evaluasi embrio

Cairan media yang dihasilkan dari pembilasan uterus pada masing-masing botol penampung sebanyak 500 ml difiltrasi menggunakan filter embrio berdiameter 75 μ m (Agtech inc., USA) dan di sisakan sekitar 10 ml untuk mempermudah proses pencarian embrio. Setelah itu, hasil filtrasi dimasukkan ke dalam cawan petri bergaris 100 x 100 x 10 mm (Falcon, USA). Proses pencarian embrio dilakukan dengan menggunakan mikroskop stereo (Olympus SZ61, Jepang) yang diperbesar 50-100 kali. Embrio dikumpulkan dalam cawan petri bulat 35 x 10 mm (Falcon, Amerika Serikat). Evaluasi embrio merupakan penilaian kualitas fase dan kualitas embrio dihasilkan yang diseleksi sesuai dengan standar. Standar yang digunakan untuk menilai kualitas embrio ditetapkan oleh International Embryo Transfer Society (2010) berdasarkan kualitas embrio dan fase perkembangan embrio.

3.2.3. Pengumpulan data

Data yang dibutuhkan dalam evaluasi merupakan data sekunder yang belum diolah (data mentah). Data tersebut meliputi jumlah *corpus luteum* (CL), total embrio koleksi serta kualitas embrio yang diklasifikasi menjadi tiga yaitu embrio layak transfer (LT), embrio *unfertilized* (UF) dan embrio degenerasi (DG). Data tersebut diperoleh dari arsip *recording* resmi milik Balai Embrio Ternak (BET) setelah mengajukan perizinan yang kemudian divalidasi. Penelitian lapangan (*Field Research*) tetap dilaksanakan walaupun menggunakan data sekunder untuk memahami konteks pengumpulan data. Penelitian lapangan dilakukan terhadap kegiatan dari seluruh objek penelitian melalui tiga pendekatan meliputi observasi, wawancara, dan dokumentasi.

3.2.3.1. Observasi

Observasi dilakukan melalui pengamatan dan partisipasi secara langsung terhadap kegiatan produksi embrio transfer yang ada di Balai Embrio Ternak (BET). Kegiatan produksi tersebut dilaksanakan mengikuti beberapa rangkaian prosedur meliputi seleksi donor, program superovulasi, koleksi embrio metode *flushing*, hingga evaluasi kualitas dan grading embrio di Laboratorium. Objek ternak yang diamati dalam observasi lapangan berasal dari bangsa berbeda dengan fokus penelitian. Namun, dari kegiatan observasi diperoleh pemahaman komprehensif terkait alur prosedur produksi dan evaluasi embrio yang diterapkan dalam pemerolehan hasil data penelitian. Pemahaman teknis tersebut memberikan landasan yang kuat dalam melakukan pengumpulan, seleksi, dan verifikasi data

sekunder secara lebih akurat serta sistematis. Pengalaman observasi juga mempermudah penulis dalam berkomunikasi dengan petugas yang bertanggung jawab terhadap ekstraksi dan pengelolaan data penelitian, sehingga proses klarifikasi informasi dapat dilakukan secara efektif dan efisien.

3.2.3.2. Wawancara

Wawancara dilakukan secara langsung kepada beberapa pihak yang terlibat dalam kegiatan produksi embrio transfer di BET meliputi petugas informasi, petugas produksi, serta teknisi laboratorium. Kegiatan wawancara ini bertujuan untuk memperoleh informasi mengenai ketersediaan, sistem *recording*, serta mekanisme pengelolaan data yang dibutuhkan dalam penelitian. tahap pertama, wawancara dilakukan untuk mengidentifikasi populasi sapi donor yang memiliki *recording* produksi aktif dan berkelanjutan. Tahap selanjutnya, melakukan sinkronisasi untuk melakukan penyesuaian antara data *recording* yang tersedia dengan data yang dibutuhkan dalam rancangan penelitian. Berdasarkan hasil wawancara diperoleh informasi bahwa data produksi embrio terdokumentasi secara berkala dalam bentuk *recording* internal.

Dari seluruh data populasi sapi donor PO yang diproduksi, dipilih individu sapi donor PO yang memenuhi kriteria inklusi, yaitu memiliki *recording* data lengkap pada umur 6 dan umur 7 tahun untuk mendukung keakuratan perbandingan intra-individu. Protokol superovulasi yang digunakan juga dilakukan seleksi secara ketat untuk menjamin validitas hasil perbandingan. Penelitian ini hanya mengambil data dari individu sapi donor PO yang menggunakan jenis hormon FSH merek

Folltropin[®] dengan dosis seragam. Protokol hormonal ini dipilih karena diidentifikasi memiliki repon hormonal paling stabil diantara protokol lain yang diberlakukan ke sapi donor PO. Seluruh data yang dianalisis dibatasi pada rentang tahun 2019 hingga tahun 2023 untuk menjaga relevansi manajemen pemeliharaan dan kondisi lingkungan yang setara.

3.2.3.3. Dokumentasi

Pengumpulan dokumentasi yang dilakukan dengan mengajukan permohonan akses data resmi ke Pejabat Pengelola Informasi dan Dokumentasi (PPID) sesuai dengan prosedur yang ada di BET. Dari seluruh data individu sapi PO pada tahun 2019 hingga tahun 2023, hanya didapatkan 5 ekor ternak donor yang sesuai dengan kriteria yang diajukan. Hal ini dikarenakan tidak setiap tahun sapi donor terus diproduksi. Ada kondisi dimana pada tahun tersebut sapi donor dibuntingkan, serta jika terjadi penurunan produksi sapi donor tersebut akan dilakukan perubahan protokol hormonal atau dilakukan pengafkiran pada tahun berikutnya. Dari kelima individu donor tersebut didapatkan masing-masing lima data produksi untuk kelompok umur 6 tahun dan lima data produksi untuk kelompok umur 7 tahun. Data sekunder ini selanjutnya ditabulasi ke format digital untuk dianalisis secara statistik.

3.2.4. Parameter penelitian

Parameter penelitian yang diamati yaitu jumlah CL, *response rate*, total embrio yang terkoleksi, *recovery rate*, dan kualitas embrio. Setiap parameter

dilakukan pengambilan data dan perhitungan melalui beberapa prosedur sebagai berikut :

3.2.4.1. Jumlah *corpus luteum*

Sebelum proses *flushing*, dilakukan uji pengecekan terhadap kondisi ovarium untuk mengamati keberadaan CL di dalamnya. Jumlah CL yang diambil merupakan jumlah CL yang terbentuk pada ovarium kiri maupun kanan. Uji pengecekan ovarium dapat dilakukan dengan dua metode yaitu dengan cara palpasi rektal dan menggunakan alat bantu USG. Metode palpasi rektal mengandalkan keterampilan pengamat untuk meraba bagian rektal yang berdekatan dengan ovarium. Permukaan ovarium akan terasa tidak rata seperti ada tonjolan yang menandakan adanya CL di dalamnya. Alat USG dimasukan melalui rektal kemudian memancarkan gelombang suara frekuensi tinggi ke dalam ovarium. Selanjutnya, monitor menangkap pantulan gelombang tersebut untuk membentuk struktur dalam ovarium. CL terlihat seperti lingkaran putih dalam layar monitor kemudian dihitung jumlahnya.

3.2.4.2. *Response rate*

Response rate merupakan parameter untuk menilai efisiensi produksi embrio dengan mengitung tingkat keberhasilan superovulasi. *Response rate* dilakukan dengan cara membandingkan ternak donor yang memberikan respon superovulasi dengan semua ternak donor yang diberikan perlakuan superovulasi. Rumus menghitung *response rate* berdasarkan (Robbaani *et al.*, 2024) sebagai berikut :

$$\text{Response rate} = \frac{\sum \text{Donor yang memberikan respon (CL} \geq 3)}{\sum \text{Donor yang disuperoovulasi}} \times 100\%$$

3.2.4.3. Total koleksi

Embrio yang diperoleh dalam wadah cairan media segera dibawa ke laboratorium kemudian dilakukan proses filtrasi atau penyaringan embrio. Filtrasi bertujuan memisahkan embrio dari media kultur dan lendir dari organ reproduksi untuk mempermudah pengamatan embrio yang diperoleh. Pengamatan embrio pada media dilakukan menggunakan alat bantu mikroskop yang dilengkapi skala kotak-kotak untuk mempermudah pergerakan spesimen saat diamati. Kemudian embrio dikoleksi menggunakan pipet khusus dan dihitung jumlahnya.

3.2.4.4. Evaluasi kualitas embrio

Evaluasi kualitas embrio dilakukan untuk menentukan tingkat kelayakan embrio yang digunakan dalam program transfer embrio. Penilaian kualitas embrio dikategorikan menjadi 3 kelompok yaitu embrio Layak Transfer (LT), Embrio Degerasi (DG), dan ovum tidak terfertilisasi (UF). Kualitas embrio yang layak transfer adalah kualitas 1 hingga 3, sedangkan untuk fase embrio layak transfer adalah dari fase 4 hingga 8. Rumus yang digunakan untuk menghitung kualitas embrio berdasarkan (Robbaani *et al.*, 2024) sebagai berikut :

$$\text{Persentase kualitas embrio} = \frac{\sum \text{Grade embrio (TF atau DG atau UF)}}{\sum \text{Embrio yang terkoleksi}} \times 100\%$$

3.2.4.5 Recovery rate

Recovery rate embrio merupakan parameter yang digunakan untuk

mengetahui presentase embrio yang berhasil diambil dari ternak donor setelah proses superovulasi dan fertilisasi. *Recovery Rate* dihitung sebagai persentase jumlah embrio terkoleksi dibagi dengan jumlah korpus luteum (CL) yang terbentuk. Rumus yang digunakan untuk menghitung *recovery rate* berdasarkan (Robbaani *et al.*, 2024) sebagai berikut :

$$\text{Persentase kualitas embrio} = \frac{\sum \text{Embrio yang terkoleksi}}{\sum \text{CL yang terbentuk}} \times 100\%$$

3.2.5. Analisis data

Jumlah sampel yang diperoleh terbatas ($n = 5$) dan bersifat berpasangan. Data dikelompokkan menjadi dua yaitu produksi embrio umur 6 tahun dan produksi embrio umur 7 tahun. Pengamatan pada setiap parameter dilakukan untuk mengetahui tingkat keberhasilan produktivitas embrio pada kedua kelompok umur yaitu umur 6 tahun dan umur 7 tahun. Parameter yang diamati meliputi jumlah CL, *response rate*, total koleksi embrio, *recovery rate* dan kualitas embrio. Kualitas embrio terdiri dari embrio LT, embrio DG, ovum UF. Analisis data dilakukan melalui pendekatan deskriptif komparatif dengan membandingkan produksi embrio tiap individu. Diagram fluktuasi antar individu disertakan untuk memperjelas adanya perbedaan hasil produksi pada umur 6 dan 7 tahun.

Analisis deskriptif dan diagram fluktuasi dilakukan untuk memberikan gambaran variasi kecenderungan perbedaan data individu. Uji statistik non-parametrik yang digunakan yaitu *Wilcoxon Signed-Rank Test* untuk menganalisis signifikansi perbedaan performa produksi berpasangan pada penambahan umur. Keseluruhan uji statistik dianalisis menggunakan aplikasi *IBM Statical Package for*

the Science (SPSS) versi 26,0. Pola dan fluktuasi produksi embrio dari tahun ke tahun juga disajikan dalam bentuk grafik garis per individu guna memperjelas kecenderungan respon produksi sepanjang periode pengamatan.

3.3. Hipotesis statistik

Hipotesis statistik dari penelitian ini yaitu :

H0 : Tidak terdapat perbedaan signifikan antara ternak donor sapi PO umur 6 dengan 7 tahun terhadap produktivitas embrio.

H1 : Terdapat perbedaan signifikan antara ternak donor sapi PO umur 6 dengan 7 tahun terhadap produktivitas embrio.

3.4. Kriteria Pengambilan Keputusan

Pengambilan keputusan dilakukan berdasarkan nilai signifikansi (P-value) hasil uji statistik *Wilcoxon Signed-Rank Test* pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Apabila $P < 0,05$ maka H0 ditolak dan H1 diterima, artinya bahwa terdapat perbedaan signifikan pada parameter produksi embrio antara sapi donor PO umur 6 tahun dan umur 7 tahun. Sedangkan, apabila $P \geq 0,05$ maka H0 diterima dan H1 ditolak, artinya bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada parameter produksi embrio antara sapi donor PO umur 6 tahun dan umur 7 tahun.